

اثر آمیگدالین بر درد ناشی از فرمالین در موش‌های سوری نر

دکتر نعمت اله غیبی^۱، دکتر محمد صوفی آبادی^۲، دکتر حسن اژدري زرمهری^۳، دکتر محمد حسین اسماعیلی^۴،

شهرام رستاک^۳، لیلا درگی^۳، حمید رسول‌پور^۳

نویسنده‌ی مسوول: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دانشکده‌ی پزشکی، گروه فیزیولوژی mohasofi@yahoo.com

دریافت: ۹۲/۳/۵ پذیرش: ۹۲/۷/۲

چکیده

زمینه و هدف: آمیگدالین ممکن است دارای آثار متابولیک و ضد درد باشد. در این تحقیق اثر تزریق مزمن آمیگدالین بر آستانه‌ی درد، وزن و قند خون موش‌های سوری بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه‌ی تجربی از آزمون فرمالین به عنوان مدل درد التهابی مزمن استفاده و ۶۰ سر موش سوری نر (۳۰-۳۵ گرم وزن) به چهار دسته‌ی ۱۵ تایی شامل گروه شاهد و گروه‌های آمیگدالین ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. آمیگدالین در سالیان حل و روزانه به صورت درون صفاقی تزریق شد. گروه شاهد نیز یک هفته سالیان دریافت کرد. بعد از آخرین تیمار، ۴۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد به کف پای راست هر موش تزریق و علائم درد (تعداد دفعات جمع کردن پوست پشت و لیسیدن محل تزریق) به مدت ۶۰ دقیقه شمارش و ثبت شد. همچنین میزان وزن قبل و بعد از آخرین تیمار با آمیگدالین و قند خون نیز در انتهای آزمایش اندازه‌گیری گردید. میانگین داده‌های حاصله با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA و تست تعقیبی توکی یا T زوجی مورد ارزیابی آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: تزریق درون صفاقی غلظت‌های ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم / کیلوگرم آمیگدالین در موش‌های سوری نر، درد القا شده توسط فرمالین را در یک روند وابسته به دوز در هر دو مرحله حاد و مزمن کاهش داد. آمیگدالین در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم علاوه بر مهار قوی درد، وزن حیوانات را نیز نسبت به قبل از تیمار کاهش بخشید. تزریق مزمن آمیگدالین فاقد تاثیر بر میزان طبیعی قند خون بود.

نتیجه‌گیری: تزریق مزمن درون صفاقی آمیگدالین آستانه درد را در موش سوری افزایش داده، همچنین موجب کاهش وزن می‌گردد.

واژگان کلیدی: آمیگدالین، آزمون فرمالین، درد، موش سوری

مقدمه

افزایش تحریک‌پذیری، تغییر در تنظیم بیان ژن و مولکول‌های جدید نظیر نوروترانسمیترها آنزیم‌ها و گیرنده‌ها می‌گردد (۲). گیرنده‌های N-متیل دی اسپاراتات در انتقال درد ناشی از تحریکات دردناک که در نخاع به وجود می‌آیند و نیز افزایش

درد از جمله تجاربی است که هر انسانی در طول عمر خود با آن مواجه می‌شود. درد موجب هوشیاری و آگاهی از آسیب بافتی است (۱). التهاب و درد مزمن به‌ویژه آسیب سیستم عصبی موجب تغییرات بارز در مسیرهای درد مانند

۱- دکترای تخصصی فیزیک پزشکی، دانشیار مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۲- دکترای تخصصی فیزیولوژی، استادیار مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۳- کارشناس ارشد هوشبری، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۴- کارشناس هوشبری، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

قابلیت تحریک نخاعی که در شرایط درد مزمن اتفاق می‌افتد نقش دارند. با فعال شدن این گیرنده کلسیم وارد گیرنده‌های عصبی شده، سپس مجموعه‌ای از رویدادهای وابسته به کلسیم فعال می‌شوند (۴ و ۳). درد در دراز مدت اثرات نامطلوب روحی و روانی را به دنبال خواهد داشت. به همین دلیل محققین به دنبال یافتن راه‌هایی برای از بین بردن یا کاهش درد بوده، تاکنون در زمینه‌ی شناخت مکانیسم‌های درد مدل‌هایی برای سنجش آستانه درد طراحی کرده‌اند. که مهم‌ترین مدل رفتاری و الکتروفیزیولوژی درد آزمون فرمالین است و به‌طور وسیعی استفاده می‌شود (۸-۵). که در این مطالعه به کار گرفته شد. در این آزمون درد طی دو فاز جداگانه بروز می‌یابد. ابتدا فاز حاد آن که با تزریق فرمالین شروع شده و به مدت ۵ تا ۷ دقیقه ادامه می‌یابد. دومین فاز ۱۰ تا ۱۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین آغاز و تا حدود یک ساعت تداوم پیدا می‌کند. فاز اول ممکن است نتیجه‌ی تحریک مستقیم گیرنده‌های حس درد باشد. اما دومین فاز تا حدی به حساس شدن نورون‌های مسیر درد در سیستم عصبی مرکزی مربوط و یا فرایندهای التهابی تشدید کننده‌ی درد را درگیر می‌کند. در مجموع فرمالین چرخه‌ی درد از طناب نخاعی به مغز و بالعکس را فعال می‌کند (۱۴-۹). ویتامین ب۱۷ که با نام علمی آمیگدالین خوانده می‌شود، یک گلوکوزید سیانوزن است که احتمال می‌رود این ماده آثار متابولیک و ضد درد داشته باشد. آمیگدالین در دانه‌ی بسیاری از میوه‌ها از جمله زرد الو، بادام، هلو، سیب، گیلان، آلو، گردو و فندق خام یافت می‌شود و مسوول تلخی بادام نیز است. برای این ماده گیاهی آثار درمانی فراوانی مانند مهار سرطان و فیروز ریه، کاهش آترواسکلروز و فشار خون ذکر شده، در آسم و آفیزم هم استفاده می‌شود (۲۳-۱۵). ساختمان شیمیایی آمیگدالین از دو ملکول گلوکز، یک بنزوالدئید و یک هیدروسیانیک اسید تشکیل شده است (۲۱ و ۱۷). امروزه یکی از راه‌های کنترل درد استفاده از داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی NSAIDs و یا

داروهای اپیوئیدی است که عوارض جانبی نسبتاً زیادی دارند. برای مثال داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی باعث ایجاد اختلالات در دستگاه گوارش، آسیب‌های کلیوی و واکنش‌های افزایش حساسیتی می‌شوند. اپیوئیدها نیز می‌توانند منجر به ایجاد تهوع، یبوست، بهت و ضعف تنفسی شده و در صورت مصرف مزمن وابستگی ایجاد کنند (۲۴). لذا جستجو برای یافتن منابع تسکینی که عوارض کمتری داشته باشند اهمیت فراوانی دارد. منابع گیاهی از این حیث اهمیت فراوانی دارند. نشان داده شده که گیاهانی که حاوی آمیگدالین کافی باشند، می‌توانند درد و التهاب را تسکین دهند (۲۷-۲۵ و ۱۵). از آنجایی که گزارشاتی مبنی بر اثر ضد التهابی و تسکینی از آمیگدالین منتشر شده، از طرفی هم بنزوالدئید موجود در آن نیز خاصیت بی‌حسی دارد. در مطالعه‌ی حاضر اثر تزریق محیطی آمیگدالین بر آستانه‌ی درد حاد و مزمن القا شده توسط فرمالین در موش‌های سوری نر مورد آزمایش قرار گرفت، مزیت این مطالعه در این بود که غلظت‌های متفاوت و کم آمیگدالین بررسی شد. گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد غلظت‌های بالای آمیگدالین می‌تواند آثار مسمومیت مشابه سیانیدها را در بدن ایجاد نماید (۲۳). همچنین از آنجایی که در ساختمان آمیگدالین گلوکز وجود داشته و بر فعالیت آنزیم‌های لوزالمعده هم اثرگذار است (۲۳ و ۲۲)، لذا غلظت گلوکز خون ۲ ساعت پس از آخرین تزریق و نیز وزن حیوانات قبل و بعد از دوره‌ی تزریق آمیگدالین یا سالیین اندازه‌گیری گردید.

روش بررسی

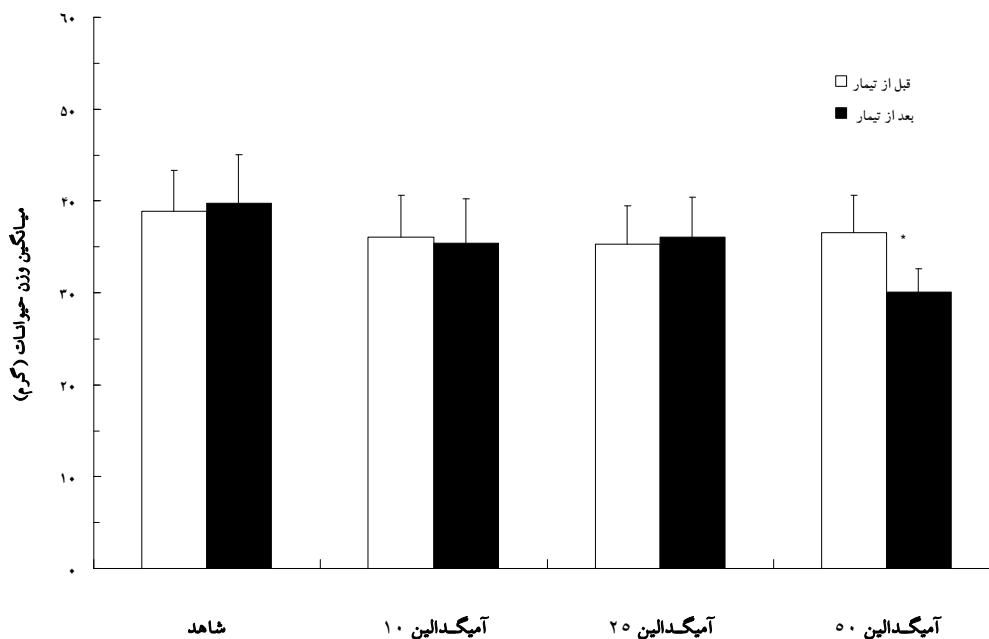
در این مطالعه‌ی تجربی از ۶۰ سر موش سوری نر با وزن ۳۰ تا ۳۵ گرم استفاده شد. موش‌ها در شرایط روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته در قفس و در درجه‌ی حرارت و رطوبت مناسب نگهداری شدند و آب و غذا به صورت آزادانه دریافت کردند. موش‌ها به چهار گروه ۱۵ تایی شامل گروه شاهد و

همچنین اندازه‌گیری قند خون ۲ ساعت پس از آخرین تزریق با استفاده از کیت و به روش گلوکز اکسیداز صورت گرفت که با سنجش میزان جذب نور محلول رنگی ایجاد شده در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر بود. اطلاعات به دست آمده توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA و تست تعقیبی توکی مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین در تمام گروه‌ها وزن حیوانات قبل از شروع تزریق آمیگدالین و بعد از آن اندازه‌گیری و نتایج حاصل از توزین به کمک آزمون T زوجی مقایسه گردید و $P < 0.05$ حد معنی‌دار تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

پارامترهای وزن، قند خون و تعداد علائم درد Flinching و Licking ناشی از تزریق فرمالین در چهار گروه شاهد، آمیگدالین ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم بررسی شدند.

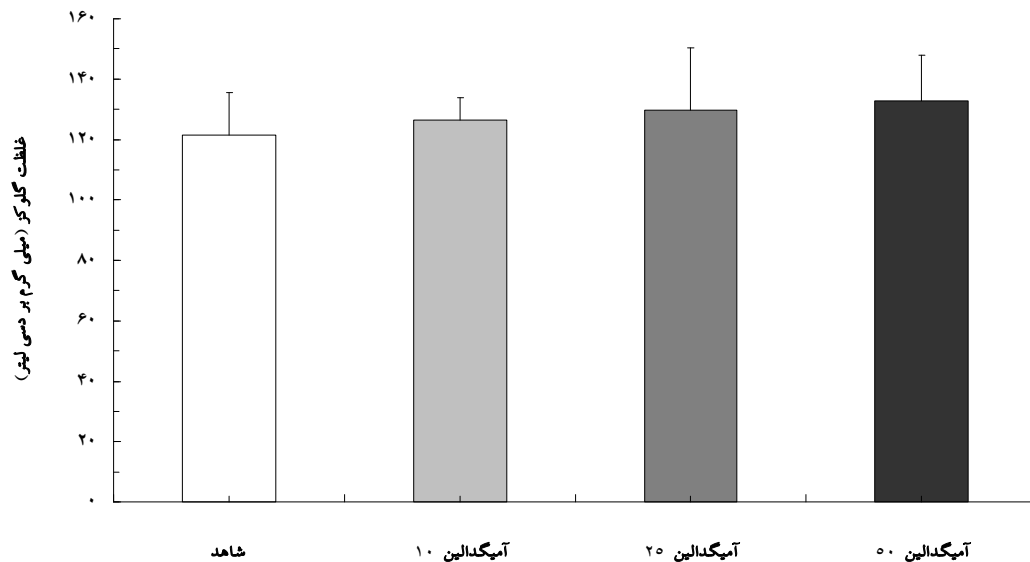
۳ گروه آمیگدالین (۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند، در مطالعه‌ی آزمایشی ما جهت یافتن دز مناسب، مشاهده شد که تزریق غلظت بالای ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آمیگدالین منجر به مرگ حیوانات شد. آمیگدالین (شرکت سیگما) به‌طور روزانه در سالیان حل شده و به مدت یک هفته به‌صورت درون صفاقی در ساعت ۹ تا ۱۰ صبح تزریق شد. گروه شاهد هم طی این مدت سالیان دریافت نمود. بعد از آخرین تزریق، ۴۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد به کف پنجه‌ی پای عقبی تزریق شده و تعداد علائم درد ناشی از تزریق فرمالین به‌صورت جمع کردن پوست پشت یا به عبارت دیگر قوز کردن (Flinching) و لیسیدن محل تزریق (Licking) در ۱۲ بازه زمانی ۵ دقیقه بلافاصله پس از تزریق فرمالین شمارش و ثبت شد (۹-۱۴). علاوه بر این، در تمام گروه‌ها وزن حیوانات در ابتدا و انتهای پایان دوره (۲ ساعت پس از آخرین تزریق) توسط ترازوی دیجیتالی (مدل GE۲۱۲، Sartorius، آلمان) اندازه‌گیری و ثبت شد.



نمودار ۱: مقایسه‌ی میانگین وزن حیوانات قبل و یک هفته بعد از تزریق آمیگدالین در گروه‌های مختلف. تزریق روزانه آمیگدالین با غلظت ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم طی یک هفته منجر به کاهش معنی‌دار وزن نسبت به زمان قبل از شروع تزریق شد. * $P < 0.05$

نگردید. همان‌گونه که در شکل ۲ آمده است، مصرف مزمن آمیگدالین منجر به افزایش اندک قند خون در دو ساعت پس از آخرین تزریق در گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد شد؛ ولی این تفاوت معنی‌دار نبود.

در خصوص وزن، همان‌گونه که در نمودار ۱ نشان داده شده است مصرف مزمن آمیگدالین با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به کاهش معنی‌دار وزن ($P < 0.05$) نسبت به شرایط قبل از شروع تزریق شد، در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌دار وزن قبل و بعد از تزریق مشاهده



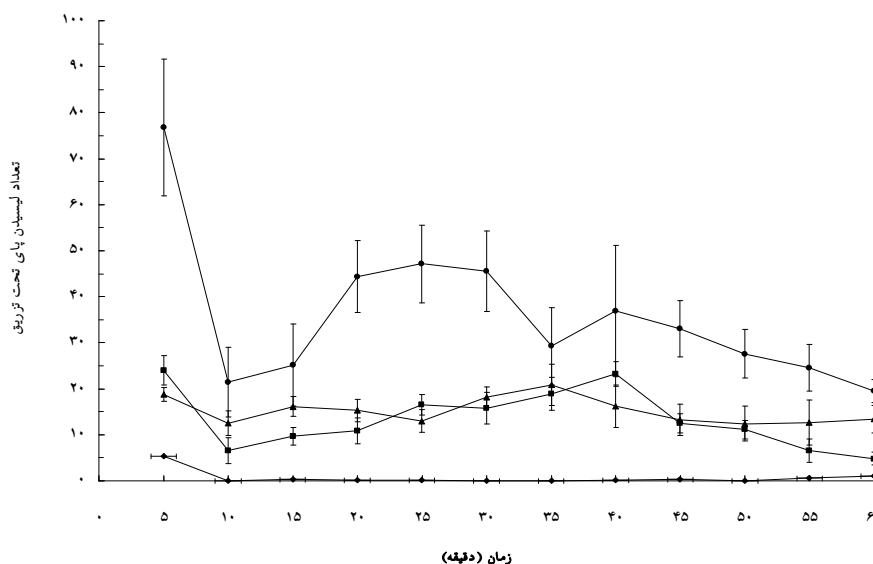
نمودار ۲: مقایسه‌ی میانگین ($Mean \pm SE$) قند خون ۲ ساعت پس از آخرین تزریق در گروه‌های مختلف تزریق روزانه آمیگدالین طی یک هفته تغییر معنی‌داری را در قند خون حیوانات به وجود نیاورد.

نمود. $P < 0.0001$ تزریق آمیگدالین به صورت وابسته به دوز در مقایسه با گروه شاهد این پارامتر را مهار کرد. در فاز مزمن، میزان این پارامتر در گروه‌های دریافت کننده آمیگدالین ۱۰، ۲۵ و به ویژه ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت. در خصوص اثر تزریق آمیگدالین بر پارامتر جمع کردن پوست پشت (Flinching) چنانچه در شکل ۴ نشان داده شده است تزریق آمیگدالین به صورت وابسته به دوز موجب کاهش این علامت درد در فاز حاد و مزمن در مقایسه با گروه شاهد گردید. که کاهش درد در فاز حاد در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم

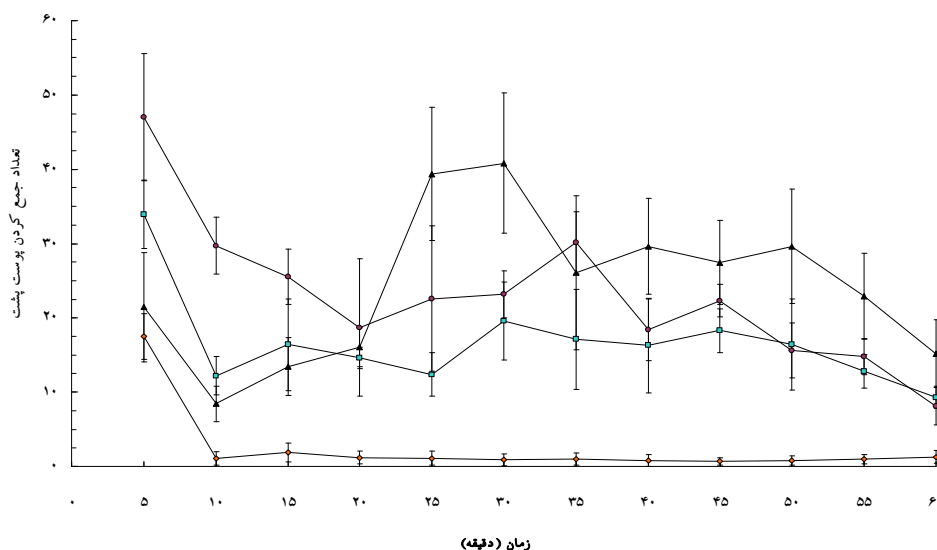
مطابق شکل ۳ تزریق آمیگدالین در هر سه غلظت ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت وابسته به دوز در مقایسه با گروه شاهد پارامتر Licking را به شکل برجسته‌ای کاهش بخشید. کاهش این علامت درد در فاز حاد در هر سه گروه تیمار معنی‌دار بود. $P < 0.0001$ در فاز مزمن به جز دقایق ۳۵ تا ۴۰ و در ۵ دقیقه ابتدایی و پایانی این مرحله، در بقیه دقایق درد در گروه‌هایی که آمیگدالین با غلظت ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند، در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود. $P < 0.0001$ در فاز مزمن آمیگدالین در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم درد ناشی از فرمالین را در تمام دقایق آزمون مهار

شد $P < 0/05$ همچنین این پارامتر درد در گروهی که آمیگدالین ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند به طور قوی مهار گردید ($P < 0/001$).

بر کیلوگرم معنی دار بود. $P < 0/05$ و اما در فاز مزمن تزریق آمیگدالین با غلظت ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی دار علامت Flinching در دقایق ۲۵ و ۳۰ آزمون فرمالین



شکل ۳: میانگین ($Mean \pm SE$) شمارش امتیازات درد به صورت Licking در ۴ گروه تحت آزمایش: شاهد (●)، آمیگدالین ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم (▲)، آمیگدالین ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم (■) و آمیگدالین ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم (◆)



شکل ۴: میانگین ($Mean \pm SE$) شمارش امتیازات درد به صورت Flinching در ۴ گروه تحت آزمایش: شاهد (○)، آمیگدالین ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم (Δ)، آمیگدالین ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم (◻) و آمیگدالین ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم (◊). تزریق آمیگدالین به صورت وابسته به دوز موجب کاهش معنی دار این علامت درد در فاز حاد در غلظت های ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و مزمن در غلظت ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه شاهد گردید.

بحث

در این مطالعه اثر غلظت‌های ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم آمیگدالین بر درد القا شده توسط فرمالین بررسی گردید. تزریق درون صفاقی آمیگدالین در موش‌های سوری نر علائم درد ناشی از تزریق فرمالین را در یک روند وابسته به دوز کاهش داد. آزمون فرمالین نخستین بار به وسیله‌ی دوبیسون و دنیس معرفی گردید. این آزمون به علت وجود دو فاز متفاوت پاسخ به محرک دردزا در حیوانات مورد توجه قرار گرفته است. مزیت آزمون فرمالین در آن است که مدلی برای مطالعه‌ی هر دو نوع درد حاد و مزمن محسوب می‌گردد. درد حاد ناشی از تحریک مستقیم گیرنده‌های درد و فعال شدن فیبرهای نوع دلتا A و C می‌باشد. در حالی که درد ایجاد شده در مرحله‌ی دوم علاوه بر واکنش‌های آماسی در بافت محیطی، مربوط به تثبیت پاسخ التهابی و یا تغییرات عملی ایجاد شده در سیستم عصبی مرکزی می‌باشد (۲۸-۳۱). در مطالعه‌ی ما نیز مدل درد دو فازی در چهار گروه تحت مطالعه برای هر دو مدل‌درد یعنی *Licking* و *Flinching* وجود داشت و هر دو علامت درد در سه گروه تحت تیمار آمیگدالین در مقایسه با گروه شاهد به‌ویژه در غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش کاملاً روشنی داشت. اگر چه اثر تسکینی آن در فاز مزمن از مرحله‌ی حاد بیشتر بود. همان‌طور که اشاره شد، آمیگدالین در دانه‌ی بسیاری از میوه‌های مغزدار یافت می‌شود (۲۳-۱۶). متأسفانه منابع اطلاعاتی کمی در مورد آمیگدالین در دسترس می‌باشد. در یکی از این مطالعات که بروی گیاه *Armeniacae semen* که حاوی مقادیر فراوانی آمیگدالین می‌باشد، انجام شد؛ اثرات بی‌دردی و ضد التهابی مشاهده گردید (۱۵). همچنین در مطالعه‌ای که در زمینه‌ی اثر بی‌دردی و وابستگی آمیگدالین در موش‌ها انجام شده است، نیز اثر بی‌دردی آمیگدالین گزارش شده است، که بی‌دردی آن فاقد برخی از خصوصیات رفتاری

ناشی از تزریق مرفین در حیوان بود و این بدین معنی است که اثر آمیگدالین می‌بایست اصولاً از طریق محیطی وساطت شده باشد و احتمالاً سیستم ضد درد اوپیوئیدی در مکانیسم آن نقشی ندارد (۲۷). در همین زمینه در تحقیق مشابه دیگری، با تزریق فرمالین، همزمان رفتار درد، تجزیه‌ی مولکولی C-fos در نورون‌های نخاعی و سنجش سایتوکاین‌های التهابی در موش‌ها بررسی گردید و مشخص شد که آمیگدالین همزمان با کاهش فاکتورهای پیش التهابی درد را نیز کاهش می‌دهد (۲۶ و ۲۵). این نتایج در راستای یافته‌های پژوهش ما می‌باشند. در مطالعات مورد اشاره از دوزهای زیر ۱ میلی گرم بر کیلوگرم آمیگدالین و تزریق عضلانی آن استفاده شده است ولی ما از دزهای بالاتر به شکل درون صفاقی و مزمن آن بهره بردیم تا بی‌دردی قوی‌تری را تجربه نماییم و داده‌های ما نشان داد که غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم آمیگدالین قادر است تا بی‌دردی عمیقی ایجاد کند بدون اینکه عوارض جانبی شدیدی را هم به دنبال داشته باشد. البته در مورد عوارض ناشی از مصرف درازمدت آن باید مطالعه و بررسی قرار گیرد. تنها اثر جانبی قابل مشاهده در مطالعه ما متعاقب یک هفته تزریق آمیگدالین کاهش معنی‌دار وزن حیوانات و آن هم در غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود. همچنین مصرف مزمن آمیگدالین منجر به افزایش اندک قند خون در دو ساعت پس از آخرین تزریق در گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد شد که این افزایش در غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم حدود ۱۰ درصد بیشتر از گروه شاهد بود ولی ارزش آماری نداشت. در مشاهدات ما تزریق آمیگدالین به موش‌ها میزان مصرف غذا را به‌ویژه در ساعات اولیه اندکی کاهش داد و احتمالاً از این طریق موجب تقلیل وزن حیوانات شد. بنابراین ممکن است تزریق آمیگدالین به‌طور مستقیم یعنی تحریک مرکز سیری یا مهار مرکز گرسنگی و یا از طرق دیگر مانند افزایش ترشح سوماتوستاتین یا گلوکاگن سبب کاهش اشتها و مصرف

بر کیلوگرم، علاوه بر اینکه قوی‌ترین اثر ضددردی را نشان داد، باعث کاهش وزن حیوانات نیز گردید. آمیگدالین اثر تسکینی قوی بر درد التهابی داشته و احتمالاً بتوان در آینده آن را به عنوان یک داروی ضد درد و ضد التهاب استفاده نمود.

تقدیر و تشکر

این طرح پژوهشی با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین و دانشکده‌های پزشکی و پیراپزشکی انجام گردیده است، که بدینوسیله از زحمات و همکاری آنان تشکر می‌شود.

References

- 1- Sofiabadi M, Esmaeili, Haghdost Yazdy H, Ghaibi N. The effect of *Elaeagnus L.* leaves extract on pain of male rats. *Yafte*. 2008; 10: 23-30.
- 2- Drag A, urban L. New pharmacological strategies for pain relief. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1996; 36: 253-80.
- 3- Khotiob J, Narita M, Suzuki M, Yajima Y, Suzuki T. Functional interaction among opioid receptor types: up-regulation of mu-and delta-opioid receptor functions after repeated stimulation of kappa-opioid receptors. *Neuropharmacology*. 2004; 46: 531-40.
- 4- Garthwaite J. Glutamate. Nitric oxide and cell-cell signaling in the nervous system. *Trends Neurosci*. 1991; 14: 60-7.
- 5- Dickenson AH, Sullivan A. Peripheral origins and central modulation of subcutaneous formalin induced active of rat dorsal horn neurons. *Neurosci Lett*. 1987; 83: 207-211.

غذا گردد (۳۳ و ۳۲). همچنین اگر آمیگدالین موجب مهار سیگنالینگ انسولین نیز شود می‌تواند ایجاد بی‌اشتهایی و هیپرگلیسمی نماید (۳۴ و ۲۲). که برای رد یا اثبات این فرضیات و نیز شناخت مکانیسم دقیق آمیگدالین بر کاهش وزن و مصرف غذا نیاز به انجام مطالعات تکمیلی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه می‌توان گفت تزریق درون صفاقی غلظت‌های ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آمیگدالین در موش سوری نر موجب کاهش درد القا شده توسط فرمالین در یک روند وابسته به دز شد و غلظت ۵۰ میلی‌گرم

- 6- Dickenson AH, Sullivan A. Subcutaneous formalin-induced activating of dorsal horn neurons in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre and post formalin. *Pain*. 1987; 30: 346-360.
- 7- Porro CA, cavazzuti M. Spatial and temporal aspects of spinal cord and brainstem activation in the formalin pain model. *Prog Neurobiol*. 1993; 41: 565-607.
- 8- Azhdari-Zarmehri H1, Puzesh S2, Rahmani A2, Erami E3, Emamjomeh MM. Assessing the effect of lidocaine injection into the nucleus paragigantocellularis lateralis on formalin test and hot plate test induced nociceptive behaviors in rats. *Zanjan University of Medical Sciences journal*. 2013; 21: 10-20.
- 9- Sofiabadi M, Heidari- Oranjaghi N, Ghasemi E, Esmaeili MH, Haghdost-Yazdi H, Erami E, Azhdari Zarmehri H. Assessment of orexin receptor 1 in stress attenuated nociceptive behaviors in

- formalin test. *Physiol Pharmacol*. 2011; 15: 395-402.
- 10- Coderre TJ, Melzack R. The contribution of excitatory aminoacids to central sensitization and persistent nociception after formalin induced tissue injury. *J Neurosci*. 1992; 12: 3665-3670.
- 11- Sofiabadi M, Azadmehr A, Haji-Aghaei R, Reza-zadeh Sh, Ajdari Zarmehri H. The effect of ethanolic extract of *Scrophularia striata* on pain in male rats. *J Med Planets*. 2012; 11: 11-18.
- 12- Dallel R, Raboisson P, Clavelou P, Saad M, Woda A. Evidence for a peripheral origin of the tonic nociceptive response to subcutaneous formalin. *Pain*. 1995; 61: 11-16.
- 13- Vaccarino AL, Melzack R. Temporal processes of formalin pain: difference role of the cingulum bundle, fornix pathway and medial bulboreicular formalin. *Pain*. 1992; 46: 257-271.
- 14- Detweiler DJ, Rohde DS, Basbaum AI. The development of opioid tolerance in the formalin test in the rat. *Pain*. 1995; 36: 251-154.
- 15- Hwang HJ, Kim P, Kim CJ, Lee HJ, Shim I, Yin CS, Yang Y, Hahm D. Antinociceptive effect of amygdalin isolated from *Prunus armeniaca* on formalin-induced pain in rats. *Biol Pharm Bull*. 2008; 31: 1559-64.
- 16- Lee J, Zhang G, Wood E, Rogel Castillo C, Mitchell AE. Quantification of Amygdalin in Nonbitter, Semibitter, and Bitter Almonds (*Prunus dulcis*) by UHPLC-(ESI)QqQ MS/MS. *J Agric Food Chem*. 2013. [Epub ahead of print].
- 17- Guo J, Wu W, Sheng M, Yang S, Tan J. Amygdalin inhibits renal fibrosis in chronic kidney disease. *Mol Med Rep*. 2013 May; 7:1453-7.
- 18- Jiagang D, Li C, Wang H, et al. Amygdalin mediates relieved atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice through the induction of regulatory T cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011; 411: 523-9.
- 19- Chen Y, Ma J, Wang F, Hu J, Cui A, Wei C, Yang Q, Li F. Amygdalin induces apoptosis in human cervical cancer cell line HeLa cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2013; 35: 43-51.
- 20- Milazzo S, Ernst E, Lejeune S, Boehm K, Horneber M. Laetrile treatment for cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011; 9: 57-64.
- 21- Li ZH and et al. Comparison of the pharmacokinetics of salidroside and salidroside in the extracts of *Rhodiola rosea* in rats. *Asian J Pharmacodynamics and Pharmacokinetics*. 2006; 6: 224-226.
- 22- Almedia HG, Campus JJ, Souza MM. Profile of patients with diabetes type-I: insulinotherapy and self monitoring. *Rev Assoc Med Bras*. 2002; 48: 151-155.
- 23- Nader Rami, and et al. Child cyanide poisoning after ingestion of bitter almonds. *Follow Clinical Toxicology*. 2010; 48: 123-130.
- 24- Husseinabadi A, Heydari P, Sahbqrany M, Zarindast MR. The analgesic effect of carbamazepine in the formalin test. *The Journal of New Cognitive Science*. 2003; 6: 4-11.
- 25- Hwang HJ, Lee HJ, Kim CJ, Shim I, Hahm DH. Inhibitory effect of amygdalin on lipopolysaccharide -inducible TNF-alpha and IL-1beta mRNA expression and carrageenan-induced

- rat arthritis. *J Microbiol Biotechnol.* 2008; 18: 1641-7.
- 26- Yang HY, Chang HK, Lee JW, Kim YS, Kim H, Lee MH, Shin MS, Ham DH, Park HK, Lee H, Kim CJ. Amygdalin suppresses lipopolysaccharide-induced expressions of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in mouse BV2 microglial cells. *Neurol Res.* 2007; 29 Suppl 1: S59-64.
- 27- Zhu YP, Su ZW, Li CH. Analgesic effect and no physical dependence of amygdalin. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 1994; 19: 105-107.
- 28- Wheeler A, Porreca HF, Cowan A. The rat paw formalin test: comparison of noxious agents. *Pain.* 1990; 40: 229-38.
- 29- Verdi J, Sabete-Kasai M, Kamalinejad M, Sharif S. Investigate the analgesic effect of Satureja hortensis linn extract in rats. *Journal of Physiology and Pharmacology.* 2003; 8: 65-163.
- 30- Capone F, Aloisi AM. Refinement of pain evaluation techniques. The formalin test. *Ann Ist Super Sanita.* 2004; 40: 223-29.
- 31- Coderre TJ, Fundytus ME, McKenna JE, Dalal S, Melzac R. The formalin test: a validation of the weighted-scores method of behavioral pain rating. *Pain.* 1993; 54: 43-50.
- 32- Lin MT, Chen JJ, Ho LT. Hypothalamic involvement in the hyperglycemia and satiety actions of somatostatin in rats. *Neuroendocrinology.* 1987; 45: 62-7.
- 33- Honda K, Kamisoyama H, Uemura T, et al. The mechanism underlying the central glucagon-induced hyperglycemia and anorexia in chicks. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2012; 163: 260-4.
- 34- Teli T, Xanthaki D, Karalis KP. Regulation of appetite and insulin signaling in inflammatory states. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1083: 319-28.

The Effect of Amygdalin on Formalin-Induced Pain in Male Mice

Ghaibi NA¹, Sofiabadi M², Azhdari Zarmehri H², Esmaeili MH², Rastak S³, Daragi L³, Rasol pour H³

¹Dept. of Biophysics, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

²Dept. of Physiology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

³Faculty of Paramedical Sciences, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Corresponding Author: Sofiabadi M, Dept. of Physiology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

E-mail: mohasofi@yahoo.com

Received: 26 May 2013 **Accepted:** 24 Sep 2013

Background and Objective: Amygdalin is likely to have analgesic and metabolic effects. In this study, the effects of chronic administration of amygdalin were investigated on the pain threshold, weight and blood sugar of mice.

Materials and Methods: In this experimental study, formalin test was used as a chronic inflammatory model of pain. 60 mice (30-35 g) were divided into four groups (n=15) including: control and amygdalin 10, 25 and 50 mg /kgw groups. Amygdalin was solved in saline and injected intraperitoneally every day at 9-10am. The control group received saline intraperitoneally for one week. After the last treatment, 40μl formalin (2.5%) was injected to the right hind paw of the mice and pain symptoms (frequency of collecting flinching of the back skin and licking injection site) were recorded for 60 min. Weight of the mice was measured before and after the last treatment with amygdalin. Blood glucose was also measured at the end of the experiment. Results were analyzed by using one way ANOVA and Tukey or paired t-test.

Results: Intraperitoneal injection of 10, 25 and 50 mg/kgw doses of amygdalin reduced pain in male mice. In concentration of 50 mg/kg, not only the pain was completely inhibited but the animals' weight also decreased compared to pre-treatment period. Chronic injections of amygdalin had no impact on normal blood sugar levels.

Conclusion: Chronic intraperitoneal injection of amygdalin increases pain threshold in mice and may also cause weight loss.

Keywords: Amygdalin, Formalin test, Pain, Mice